

PCT

特許協力条約に基づいて公開された国際出願



(51) 国際特許分類6 A61K 9/72, 9/107, 47/24, 47/26, 47/14, 47/12	A1	(11) 国際公開番号 WO99/44594
		(43) 国際公開日 1999年9月10日(10.09.99)
(21) 国際出願番号 PCT/JP99/01004		
(22) 国際出願日 1999年3月3日(03.03.99)		(81) 指定国 CA, CN, JP, KR, RU, US, 欧州特許(AT, BE, CH, CY, DE, DK, ES, FI, FR, GB, GR, IE, IT, LU, MC, NL, PT, SE), ヨーラシア特許(AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM)
(30) 優先権データ 特願平10/53159 1998年3月5日(05.03.98)	JP	添付公開書類 国際調査報告書
(71) 出願人(米国を除くすべての指定国について) 日本新薬株式会社(NIPPON SHINYAKU CO., LTD.)[JP/JP] 〒601-8550 京都府京都市南区吉祥院西ノ庄門口町14番地 Kyoto, (JP)		
(72) 発明者; および (73) 発明者/出願人(米国についてのみ) 國家 曜(SONOKE, Satoru)[JP/JP] 〒621-0843 京都府亀岡市西つつじヶ丘大山台一丁目16-3 Kyoto, (JP)		
関 純造(SEKI, Junzo)[JP/JP] 〒567-0032 大阪府茨木市西駅前町13番11号 Osaka, (JP)		
(54) Title: FAT EMULSIONS FOR INHALATIONAL ADMINISTRATION		
(54)発明の名称 吸入投与用脂肪乳剤		
(57) Abstract Preparations for inhalational administration adequate for the inhalational administration of drugs, in particular, hardly water soluble drugs. The above preparations are provided as optionally freeze-dried fat emulsions which are o/w type fat emulsions wherein fat emulsion particles containing an oily component, an emulsifier and a drug as the essential ingredients are dispersed in water, characterized in that the fat emulsion particles have an average particle diameter of from 5 to 100 nm. By using an appropriate inhalator, aerosol particles capable of arriving at pulmonary alveoluses can be easily formed from the inhalants and the particle diameter of the aerosol particles can be easily controlled.		

(57)要約

本発明の目的は、薬物、特に水に難溶な薬物を吸入投与するのに優れた吸入投与用製剤を提供することにある。

本発明は、油成分、乳化剤、及び薬物を必須構成成分とする脂肪乳剤粒子が水中に分散しているO/W型脂肪乳剤であって、かかる脂肪乳剤粒子の平均粒子径が5~100nmの範囲内であることを特徴とする吸入投与用脂肪乳剤又はその凍結乾燥製剤である。

適当な吸入器具を用いれば、本発明吸入剤から、肺胞まで到達しうる大きさのエアロゾル粒子を容易に発生させることができ、かつエアロゾル粒子の粒径コントロールも容易である。

PCTに基づいて公開される国際出願のパンフレット第一頁に掲載されたPCT加盟国を同定するために使用されるコード(参考情報)

AE アラブ首長国連邦	DM ドミニカ	KZ カザフスタン	SD スーダン
AL アルバニア	EE エストニア	LC セントルシア	SE スウェーデン
AM アルメニア	ES スペイン	LI リビテンシュタイン	SG シンガポール
AT オーストリア	FI フィンランド	LK スリ・ランカ	SI スロヴェニア
AU オーストラリア	FR フランス	LR リベリア	SK スロヴァキア
AZ アゼルバイジャン	GA ガボン	LS レソト	SL シエラ・レオネ
BA ボスニア・ヘルツェゴビナ	GB 英国	LT リトアニア	SN ゼネガル
BB バルバドス	GD グレナダ	LU ルクセンブルグ	SZ スワジ蘭
BE ベルギー	GE グルジア	LV ラトヴィア	TD チャード
BF ブルキナ・ファン	GH ガーナ	MC モナコ	TG トーゴ
BG ブルガリア	GM ガンビア	MD モルドバ	TJ タジキスタン
BH ベナン	GN ギニア	MG マダガスカル	TZ タンザニア
BR ブラジル	GW ギニア・ビサオ	MK マケドニア旧ユーゴスラヴィア	TM トルクメニスタン
BY ベラルーシ	GR ギリシャ	共和国	TR トルコ
CA カナダ	HR クロアチア	ML マリ	TT トリニダッド・トバゴ
CF 中央アフリカ	HU ハンガリー	MN モンゴル	UA ウクライナ
CG コンゴ	ID インドネシア	MR モリタニア	UG ウガンダ
CH スイス	IE アイルランド	MW マラウイ	US 米国
CI コートジボアール	IL イスラエル	MX メキシコ	UZ ウズベキスタン
CV カメルーン	IS インド	NE ニジェール	VN ヴィエトナム
CN 中国	IT アイスランド	NL オランダ	YU ユーロースラビア
CR コスタ・リカ	JP 日本	NO ノールウェー	ZA 南アフリカ共和国
CU キューバ	KE ケニア	NZ ニュー・ジーランド	ZW ジンバブエ
CY キプロス	KG キルギスタン	PL ポーランド	
CZ チェコ	KP 北朝鮮	PT ポルトガル	
DE ドイツ	KR 韓国	RO ルーマニア	
DK デンマーク		RU ロシア	

明細書

吸入投与用脂肪乳剤

技術分野

本発明は、薬物を含有する医療用のo/w型吸入投与用脂肪乳剤に関するものである。

背景技術

薬物を人体に投与する一つの手法として、ネブライザー等の吸入器具により薬物の溶解液から微細な霧状のエアロゾル粒子を発生させ、これを鼻腔ないしは口腔から吸入させる投与方法が知られている。

この方法では薬物を水に溶解させる必要があるため、水に難溶な薬物に対して応用する場合には、界面活性剤等を用いて可溶化を図る必要がある。しかし、界面活性剤を用いて可溶化した溶液をネブライザー等の吸入器具を用いて吸入投与しようとしても、刺激性があったり、泡立ったりして、実際上吸入投与することが困難である。

また、リビッドマイクロスフェアと言われる、乳剤粒子径が比較的大きな脂肪乳剤中に薬物を溶解させ、ネブライザー等の吸入器具を用いて吸入投与する方法が知られている（例えば、特開平5-70346号公報、特開平5-124965号公報、特開平8-301762号公報）。しかし、当該脂肪乳剤の粘度は比較的高く、乳剤粒子径が平均0.2～0.4 μmと大きいことから、ネブライザー等の吸入器具を用いても微細な、例えば肺胞まで到達しうる気体動力学的粒子径（MMAD: mass median aerodynamic diameter）が0.5～5 μmの霧状のエア

ロゾル粒子を発生させ難く、また、前記のように乳剤粒子径が大きいことから、 $0.22\mu\text{m}$ のメンブレンフィルターによるろ過滅菌ができないなどの欠点を有する。

発明の開示

本発明の目的は、薬物、特に水に難溶な薬物を吸入投与するのに優れた製剤を提供することにある。

本発明者らは銳意研究を重ねた結果、数十nmという極めて微細な脂肪乳剤粒子が分散している超微粒子o/w型脂肪乳剤が薬物を吸入投与するのに優れていることを初めて見出し、本発明を完成した。

従って、本発明は、油成分、乳化剤、及び薬物を必須構成成分とする脂肪乳剤粒子が水中に分散しているo/w型脂肪乳剤であって、かかる脂肪乳剤粒子の平均粒子径が5～100nmの範囲内であることを特徴とする吸入投与用脂肪乳剤（以下「本発明吸入剤」という）又はその凍結乾燥製剤に関するものである。また、油成分、乳化剤、及び薬物を必須構成成分とする脂肪乳剤粒子が水中に分散しているo/w型脂肪乳剤であって、かかる脂肪乳剤粒子の平均粒子径が5～100nmの範囲内であることを特徴とする脂肪乳剤又はその凍結乾燥製剤を吸入投与する方法についても本発明として挙げができる。

以下、本発明を詳述する。

本発明に適用しうる油成分としては、医薬用製剤として用い得る油成分であれば特に制限はなく、例えば、植物油、動物油、中性脂質（モノ置換、ジ置換、又はトリ置換のグリセライド）、合成油脂、ステロール誘導体を挙げることができる。具体的には、植物油とし

て大豆油、綿実油、菜種油、胡麻油、コーン油、落花生油、サフラン油等を、動物油として魚油等を、中性脂質としてトリオレイン、トリリノレイン、トリパルミチン、トリステアリン、トリミリスチン、トリアラキドニン等を、合成脂質としてアゾン等を、ステロール誘導体としてコレステリルオレエート、コレステリルリノレート、コレステリルミリステート、コレステリルパルミテート、コレステリルアラキデート等を挙げることができる。これらは1種又は2種以上組み合わせて用いることができる。好ましい油成分としては、トリグリセライドやこれを主成分とする植物油を挙げることができる。実用的には大豆油が好ましく、特に高純度に精製された精製大豆油（グリセライド含有量が99重量%以上のものが好ましい）が好ましい。

本発明吸入剤中の当該油成分の含有量は、油成分の種類や他の構成成分等によって異なるが、0.1～30w/v%の範囲内が適当であり、1～20w/v%の範囲内が好ましい。

本発明に適用しうる乳化剤としては、医薬用製剤として用い得る乳化剤であれば特に制限はなく、例えば、リン脂質、非イオン性界面活性剤を挙げることができる。具体的に、リン脂質としては、ホスファチジルコリン、ホスファチジルエタノールアミン、ホスファチジルイノシトール、ホスファチジルセリン、ホスファチジルグリセロール、スフィンゴミエリン、レシチン等を挙げることができる。また、水素添加されたリン脂質を用いることもできる。非イオン性界面活性剤としては、ポリアルキレンゲリコール（例えば、平均分子量1000～10000、好ましくは4000～6000のポリ

エチレングリコール)、ポリオキシアルキレン共重合体(例えば、平均分子量1000～2000、好ましくは600～1000のポリオキシエチレン-ポリオキシプロピレン共重合体)、硬化ヒマシ油ポリオキシアルキレン誘導体(例えば、硬化ヒマシ油ポリオキシエチレン-(20)-エーテル、同一(40)-エーテル、同一(100)-エーテル等)ヒマシ油ポリオキシアルキレン誘導体(例えば、ヒマシ油ポリオキシエチレン-(20)-エーテル、同一(40)-エーテル、同一(100)-エーテル等)等を挙げることができる。これらは1種又は2種以上用いることができる。好ましい乳化剤としては、卵黄ホスファチジルコリン、卵黄レシチン、大豆レシチンを挙げることができる。実用的には卵黄レシチン、大豆レシチンが好ましい。

本発明吸入剤中の当該乳化剤の含有量は、乳化剤の種類や他の構成成分等によって異なるが、0.05～40w/v%の範囲内が適当であり、0.1～20w/v%の範囲内が好ましい。

なお、油成分と乳化剤との重量比(油成分/乳化剤)は0.1～2.0の範囲内が適当であり、0.4～6.0の範囲内が好ましく、0.8～1.2(特に1)の範囲内であるものがより好ましい。

本発明に適用しうる薬物は特に制限されないが、相対的に水よりも油成分の方に溶解度の高い薬物が好ましい。このような薬物として、いわゆる脂溶性薬物や水難溶性薬物を挙げることができる。例えば、中枢神経系用薬、末梢神経系用薬、感覚器官用薬、循環器官用薬、呼吸器官用薬、ホルモン剤、泌尿生殖器官用薬、肛門用薬、ビタミン剤、肝臓疾患用剤、痛風治療剤、酵素製剤、糖尿病用剤、

免疫抑制剤、細胞賦活用薬、腫瘍用薬、放射性医薬品、アレルギー用薬、抗生物質製剤、化学療法剤、生物学的製剤、体外診断用医薬品を挙げることができる。

具体的には、例えば、下記の薬物を挙げることができる。

1. ステロイド剤

デキサメタゾン、プレドニゾロン、ベタメタゾン、プロピオニ酸ベクロメタゾン、トリアムシノロン、ヒドロコルチゾン、フルドロコルチゾン、プラステロン、及びその塩、並びにそれらの脂溶性導体。

2. β 刺激剤

プロカテロール、オルシプレナリン、塩酸イソプロテロノール、ピルブテロール、テルブタリン、ヘキソプレナリン、臭化水素酸フェノテロール、硫酸ヘキソプレナリン、硫酸テルブタリン、硫酸サルブタモール、硫酸オキシプレナリン、フマル酸ホルモテロール、塩酸イソプレナリン、塩酸ピルブテロール、塩酸プロカテロール、塩酸マブテロール、ツロブテロール、及びその塩、並びにそれらの脂溶性誘導体。

3. キサンチン系

ジプロフィリン、プロキシフィリン、アミノフィリン、テオフィリン、及びその塩、並びにそれらの脂溶性誘導体。

4. 抗生物質

イセチオニ酸ペントミジン、セフメノキシム、カナマイシン、フラジオマイシン、エリスロマイシン、ジョサマイシン、テトラサイクリン、ミノサイクリン、クロラムフェニコール、ストレプトマイ

シン、ミデカマイシン、アムホテリシンB、イトラコナゾール、ナイスタチン、及びその塩、並びにそれらの脂溶性誘導体。

5. その他

臭化イプラトロピウム、塩酸メチルエフェドリン、塩酸トリメトキノール、塩酸クレンブテロール、塩酸トリメトキノール、臭化オキシトロピウム、臭化フルトロピウム、塩酸メトキシフェナミン、塩酸クロルプレナリン、クロモグリク酸ナトリウム。

本発明吸入剤中の当該薬物の含有量は、薬物の種類や他の構成成分等によって異なるが、0.05～20w/v%の範囲内が適當である。

さらに本発明では、任意に乳化補助剤や乳化安定化剤を配合することができる。これら乳化補助剤、乳化安定化剤としては、炭素数6～22の直鎖状又は分枝状の飽和又は不飽和脂肪酸、具体的には、ステアリン酸、オレイン酸、リノール酸、パルミチン酸、リノレン酸、ミリスチン酸やこれらの塩（例えば、アルカリ金属塩（ナトリウム塩、カリウム塩など）、アルカリ土類金属塩（カルシウム塩など）等、炭素数2～22の第一級脂肪族アミン又は第二級脂肪族アミン、具体的には、エタノールアミン、プロピルアミン、オクチルアミン、ステアリルアミン、オレイルアミン等、リジン、ヒスチジン、オルニチン、アルギニン等の塩基性アミノ酸、コレステロールやコレスタンール等のステロール類、ホスファチジン酸やガングリオシド、ステアリルアミン等の荷電物質などを挙げることができる。これらは1種類に限ることなく、適宜数種類を組み合わせて使用することができる。

本発明吸入剤中のこれら配合剤の含有量は、その目的等に応じて異なるが、通常 2 w/v%以下が適当であり、好ましくは 1 w/v%以下である。

その他、医薬用製剤に用い得る酸化防止剤、防腐剤、等張化剤、緩衝剤、安定化剤等の添加剤及び補助物質、栄養物質等も任意に配合することができる。具体的には、安息香酸、アスコルビン酸、トコフェロール等を挙げることができる。これらは通常適当量含有することができ、10 w/v%以下で充分である。

本発明に係る脂肪乳剤粒子の平均粒子径は、5～100nmであるが、5～70nmが好ましく、10～50nmがより好ましい。また、粒径幅 5～100nmに 90% 以上の脂肪乳剤粒子が存在する脂肪乳剤が好ましい。

本発明吸入剤の脂肪乳剤粒子は水中に分散しているが、かかる水としては、例えば、水道水、精製水、蒸留水、注射用水、生理食塩水を含む電解質液、ブドウ糖液を挙げることができる。

本発明吸入剤は、凍結乾燥して凍結乾燥製剤とすることができます。凍結乾燥製剤とする場合には、凍結乾燥された脂肪乳剤粒子やいわゆる凍結乾燥ケーキを保護するために、適当な賦形剤を配合するのが好ましい。かかる賦形剤としては、例えば、糖類を挙げることができ、二糖類が好ましく、具体的には、マルトース、トレハロース、シュークロースを挙げることができる。特に、マルトースが好ましい。

本発明吸入剤中の上記賦形剤の含有量は、賦形剤の種類や他の構成成分等によって異なるが、1～30 w/v%の範囲内が適当であり、3～20 w/v%の範囲内が好ましい。

本発明吸入剤は、リビッドナノスフェアである超微粒子脂肪乳剤を製造するための慣用手法により製造することができる（例えば、特開平2-203号公報、特開平1-143826号公報、特開平1-249716号公報）。例えば、所定量の油成分に、薬物、乳化剤、及びその他の添加剤等を適宜添加し、所望により加熱して均質化し、更に適当事の水を加えて常用のホモミキサー或はモジナイザー、超音波モジナイザー、またマイクロフルイダイザー（商品名）、ナノマイザー（商品名）、アルティマイザー（商品名）、マントンーガウリン型高圧モジナイザー等の乳化機により、所定の粒子径まで乳化処理することによって製造することができる。粗乳化と本乳化の2段階に分けて製造することもできる。

本発明吸入剤は、 $0.22\mu\text{m}$ のメンブレンフィルターによりろ過滅菌を行うことができる。

本発明吸入剤の凍結乾燥製剤は、慣用手法により本発明吸入剤を凍結乾燥処理することによって製造することができる（例えば、PCT WO92/07552、特開平5-43450号公報、特開平6-157294号公報）。例えば、本発明吸入剤を滅菌後、所定量の本発明吸入剤をバイアル瓶に分注する。そして約-40～-20°Cの条件で予備凍結を約2時間程度行い、約0～10°Cで減圧下に一次乾燥を行い、次いで、約15～25°Cで減圧下に二次乾燥して凍結乾燥する。そして、一般的にはバイアル内部を窒素ガスで置換し、打栓して本発明吸入剤に係る凍結乾燥製剤を製造することができる。

本発明吸入剤は、適用部位（上気道か細気管支か末梢気道か肺胞かなど）や治療目的（炎症治療か気管支拡張かなど）に応じて、適

当な大きさのエアロゾル粒子を発生させることができる装置を用いて本発明吸入剤のエアロゾル粒子を発生させ、鼻腔内ないしは口腔内から人体に適用することができる。本発明吸入剤のエアロゾル粒子を発生させることができるものでは、気体動力学的粒子径が0.5～50μmのエアロゾル粒子を発生させることができれば特に制限されないが、気体動力学的粒子径が0.5～5μm、特に1～2μmのエアロゾル粒子を発生させることができるものでは、有用である。このような装置の具体例としては、加圧型ネブライザーや超音波ネブライザーを挙げることができる。従って、本発明には、本発明吸入剤を含有するネブライザーレも含まれる。また、本発明吸入剤を含有した吸入エアゾール剤としてもできる。

本発明に係る凍結乾燥製剤は、吸入投与を行うに際して、例えば、攪拌操作なしに又は攪拌操作をしながら任意の適当な溶液（再溶解液）を添加することによって再溶解してからネブライザー等を用いて人体に適用することができる。かかる再溶解液としては、例えば、水道水、精製水、蒸留水、注射用水、生理食塩水を含む電解質液、ブドウ糖液、一般輸液、飲料水を挙げることができる。この再溶解液の液量は、特に制限されないが、凍結乾燥前の液量の0.5～2倍量、又は500ml以下が適当である。従って、本発明には、本発明吸入剤の凍結乾燥製剤を含有するネブライザーレも含まれる。

また、本発明に係る凍結乾燥製剤は、微粉碎して、スピンドラーハー、ディスクハーラー等の適当な吸入器具を用いて微粉末の形態で直接吸入することもできる。従って、本発明には、本発明吸入剤の凍結乾燥製剤を含有する粉末吸入剤も含まれる。

本発明吸入剤は、適当な吸入器具を用いれば、脂肪乳剤粒子に内包された形態で薬物を肺胞にまで十分に到達させることができるので、脂肪乳剤粒子の血管内への移行性等から全身作用を目的とすることも可能である。

発明を実施するための最良の形態

以下、実施例、試験例を示して本発明を更に詳述する。

実施例 1

疑似薬物としてコレステロールの蛍光誘導体Cholesteryl-anthracene-9-carboxylate(CA) 5m gを用い、これに精製卵黄レシチン500 m g、精製大豆油500 m g、注射用蒸留水9 mLを加え、次いで日本薬局方グリセリン220 m gを添加して、プローブ型超音波ホモジナイザー（プランソン ソニファイア、モデル185、以下同じ）により、氷水冷下で60分間超音波処理を施した。生成したCA含有の脂肪乳剤は淡黄色で透明であった。注射用蒸留水で全量を10m Lとした後、0.22μ m のろ過メンブレンフィルターを通過させ無菌製剤とし、クリーンベンチ内で、注射アンプルに2.0 mLづつ窒素雰囲気下で充填し本発明吸入剤を得た。また、この本発明吸入剤の脂肪乳剤粒子の平均粒子径は、光散乱粒子径測定装置（大塚電子、DLS-700、以下同じ）により測定した結果、30.2nmであった。また、かかる脂肪乳剤粒子は透過型電子顕微鏡による観察の結果、均一な球形の超微粒子であることが確認され、リボソームの様な脂質二分子膜構造体は観察されなかった。

実施例 2

アムホテリシンB（抗真菌剤）2 m gに大豆レシチン500 m g、

コレステリルオレエート300 mg、注射用蒸留水10mLを加え、プローブ型超音波ホモジナイザーにより、氷水冷下で60分間超音波処理を施した。生成したアムホテリシンB含有の脂肪乳剤は黄色で透明であった。0.22 μmのろ過メンブレンフィルターを通過させ無菌製剤とした後、クリーンベンチ内で、注射アンプルに2.0 mLづつ窒素雰囲気下で充填し本発明吸入剤を得た。また、この本発明吸入剤の脂肪乳剤粒子の平均粒子径は、光散乱粒子径測定装置により測定した結果、40.2nmであった。また、かかる脂肪乳剤粒子は透過型電子顕微鏡による観察の結果、均一な球形の超微粒子であることが確認され、リポソームの様な脂質二分子膜構造体は観察されなかつた。

実施例 3

ケアイアズレン（抗炎症剤）100 mgに卵黄レシチン400 mg、トリオレイン270 mg、生理食塩水10mLを加え、プローブ型超音波ホモジナイザーにより、氷水冷化40分間超音波処理を施した。生成したケアイアズレン含有の脂肪乳剤は青色で透明であった。0.22 μmのろ過メンブレンフィルターを通過させ無菌製剤とした後、クリーンベンチ内で、注射アンプルに2.0 mLづつ窒素雰囲気下で充填し本発明吸入剤を得た。また、この本発明吸入剤の脂肪乳剤粒子の平均粒子径は、光散乱粒子径測定装置により測定した結果、22.1 nmであった。また、かかる脂肪乳剤粒子は透過型電子顕微鏡による観察の結果、均一な球形の超微粒子であることが確認され、リポソームの様な脂質二分子膜構造体は観察されなかつた。

実施例 4

プロピオン酸ベクロメタゾン（ステロイド剤）1 mgに卵黄レシチン400 mg、中鎖脂肪酸トリグリセライド270 mg、注射用蒸留水10mLを加え、プローブ型超音波ホモジナイザーにより、氷水冷下で50分間超音波処理を施した。生成したプロピオン酸ベクロメタゾン含有の脂肪乳剤は淡黄色で透明であった。0.22μmのろ過メンブレンフィルターを通過させ無菌製剤とした後、クリーンベンチ内で、注射アンプルに2.0 mLづつ窒素雰囲気下で充填し本発明吸入剤を得た。また、この本発明吸入剤の脂肪乳剤粒子の平均粒子径は、光散乱粒子径測定装置により測定した結果、35.2nmであった。また、かかる脂肪乳剤粒子は透過型電子顕微鏡による観察の結果、均一な球形の超微粒子であることが確認され、リボソームの様な脂質二分子膜構造体は観察されなかった。

実施例 5

シクロスボリンA（免疫抑制剤）50mgに精製卵黄レシチン500 mg、精製大豆油500 mg、注射用蒸留水9 mLを加え、次いで日本薬局方グリセリン220 mgを添加して、プローブ型超音波ホモジナイザーにより、氷水冷下で60分間超音波処理を施した。生成したシクロスボリン含有の脂肪乳剤は淡黄色で透明であった。注射用蒸留水で全量を10mLとした後、0.22μmのろ過メンブレンフィルターを通過させ無菌製剤とした後、クリーンベンチ内で、注射アンプルに2.0 mLづつ窒素雰囲気下で充填し本発明吸入剤を得た。また、この本発明吸入剤の脂肪乳剤粒子の平均粒子径は、光散乱粒子径測定装置により測定した結果、40.2nmであった。また、かかる脂肪乳剤粒子は透過型電子顕微鏡による観察の結果、均一な球形の超微粒

子であることが確認され、リポソームの様な脂質二分子膜構造体は観察されなかった。

実施例 6

デキサメタゾンバルミテート（ステロイド剤）1 mgに大豆レシチン400 mg、トリオレイン400 mg、注射用蒸留水10mLを加え、プローブ型超音波ホモジナイザーにより、氷水冷下で50分間超音波処理を施した。生成したデキサメタゾンバルミテート含有の脂肪乳剤は淡黄色で透明であった。0.22 μmのろ過メンブレンフィルターを通過させ無菌製剤とした後、クリーンベンチ内で、注射アンプルに2.0 mLづつ窒素雰囲気下で充填し本発明吸入剤を得た。また、この本発明吸入剤の脂肪乳剤粒子の平均粒子径は、光散乱粒子径測定装置により測定した結果、29.6nmであった。また、かかる脂肪乳剤粒子は透過型電子顕微鏡による観察の結果、均一な球形の超微粒子であることが確認され、リポソームの様な脂質二分子膜構造体は観察されなかった。

実施例 7

ジフェンヒドラミン（抗ヒスタミン剤）1 gに大豆レシチン40 g、トリオレイン40 g、10%マルトース1 Lを加え、マントンーゴウリン型ホモジナイザーを用いて乳化を行った。生成したジフェンヒドラミン含有の脂肪乳剤は、淡黄白色～黄白色で透明であった。この脂肪乳剤の脂肪乳剤粒子の平均粒子径は、光散乱粒子径測定装置により測定した結果、38.9nmであった。これを0.22 μmのろ過メンブレンフィルターを通過させ無菌製剤とした後、クリーンベンチ内で、注射バイアルに2.0 mLづつ充填し凍結乾燥を施し、本発明に係る

吸入投与用凍結乾燥製剤を得た。この本発明に係る吸入用凍結乾燥製剤を注射用蒸留水で再溶解し、光散乱粒子径測定装置を用いて脂肪乳剤粒子の平均粒子径を測定したところ、40.1nmであった。また、かかる脂肪乳剤粒子は透過型電子顕微鏡による観察の結果、均一な球形の超微粒子であることが確認され、リボソームの様な脂質二分子膜構造体は観察されなかった。

実施例 8

プレドニゾロン（ステロイド剤）1 g に大豆レシチン60 g、トリノレイン50 g、10%マルトース1 Lを加え、マントンーゴウリン型ホモジナイザーを用いて乳化を行った。生成したプレドニゾロン含有の脂肪乳剤は、白色で透明であった。この脂肪乳剤の脂肪乳剤粒子の平均粒子径は、光散乱粒子径測定装置により測定した結果、37.5nmであった。これを0.22 μmのろ過メンブレンフィルターを通過させ無菌製剤とした後、クリーンベンチ内で、注射バイアルに2.0 mLしづつ充填し凍結乾燥を施し、本発明に係る吸入用凍結乾燥製剤を得た。この本発明に係る吸入用凍結乾燥製剤を注射用蒸留水で再溶解し、光散乱粒子径測定装置を用いて脂肪乳剤粒子の平均粒子径を測定したところ、33.3nmであった。また、かかる脂肪乳剤粒子は透過型電子顕微鏡による観察の結果、均一な球形の超微粒子であることが確認され、リボソームの様な脂質二分子膜構造体は観察されなかった。

実施例 9

アムホテリシンB（抗真菌剤）1 g に大豆レシチン50 g、トリオレイン50 g、10%トレハロース1 Lを加え、マイクロフルイダイザ

ー型ホモジナイザー（M110-E/H）を用いて乳化を行った。生成したアムホテリシンB含有の脂肪乳剤は、黄色で透明であった。この脂肪乳剤の脂肪乳剤粒子の平均粒子径は、光散乱粒子径測定装置により測定した結果、32.9nmであった。これを0.22μmのろ過メンブレンフィルターを通過させ無菌製剤とした後、クリーンベンチ内で、注射バイアルに2.0 mLづつ充填し凍結乾燥を施し、本発明に係る吸入用凍結乾燥製剤を得た。この本発明に係る吸入用凍結乾燥製剤を注射用蒸留水を用いて再溶解し、光散乱粒子径測定装置を用いて脂肪乳剤粒子の平均粒子径を測定したところ、35.5nmであった。また、かかる脂肪乳剤粒子は透過型電子顕微鏡による観察の結果、均一な球形の超微粒子であることが確認され、リボソームの様な脂質二分子膜構造体は観察されなかった。

実施例10

実施例9の本発明に係る吸入用凍結乾燥製剤125 gを粒子径が0.5~4 μmとなるまで微細に粉碎し、硬カプセルに0.25 gづつ充填した。これにより、1.25mgのアムホテリシンBを含有したカプセル剤が500 カプセル得られた。このカプセルはパブライザー粉末吸入器（特公昭63-6024号公報）を使用して穴を開けることができ、これにより内容物を吸入することができる。

実施例11

ツロブテロール（ β 2 刺激剤）0.2 gに卵黄レシチン50 g、菜種油50 g、10%スクロース1 Lを加え、マイクロフルイダイザー型ホモジナイザー（M110-E/H）を用いて乳化を行った。生成したツロブテロール含有の脂肪乳剤は、淡白色で透明であった。こ

の脂肪乳剤の脂肪乳剤粒子の平均粒子径は、光散乱粒子径測定装置により測定した結果、36.6nmであった。これを0.22μmのろ過メンブレンフィルターを通過させ無菌製剤とした後、クリーンベンチ内で、注射バイアルに2.0 mLづつ充填し凍結乾燥を施し、本発明に係る吸入用凍結乾燥製剤を得た。この本発明に係る吸入用凍結乾燥製剤を注射用蒸留水を用いて再溶解し、光散乱粒子径測定装置を用いて脂肪乳剤粒子の平均粒子径を測定したところ、38.7nmであった。

また、かかる脂肪乳剤粒子は透過型電子顕微鏡による観察の結果、均一な球形の超微粒子であることが確認され、リポソームの様な脂質二分子膜構造体は観察されなかった。

実施例12

実施例11の本発明に係る吸入用凍結乾燥製剤250 gを粒子径が0.5~4 μmになるまで微細に粉碎し、硬カプセルに0.5 gづつ充填した。これにより、0.5 mgのツロブテロールを含有するカプセル剤が1000カプセル得られた。このカプセルはパプライザー粉末吸入器（特公昭63-6024号公報）を使用して穴を空けることができ内容物を吸入することができる。

試験例 1 気体動力学的粒子径 (MMAD) 及びその分布の測定 (その1)

実施例1のCA含有本発明吸入剤を検体試料とし、対照試料として従来公知の平均粒径0.2 μmの脂肪乳剤にCAを含有させたものを用いた。この対照試料はCA 5 mg、精製大豆油100 mg、精製卵黄レシチン12mgに注射用蒸留水9 mLを加え、次いで日本薬局

方グリセリン220 mgを添加して、プローブ型超音波ホモジナイザーにより氷水冷下で乳化処理を施し、注射用蒸留水で全量を10mLとしたものである。

気体動力学的粒子径及びその分布の測定は、一定の速度でエアゾールを吸引し慣性の差を利用して、多段のステージに粒子を分級できるAnderson社のCascade Impactor (USP 収載) を採用した。

実験は、まず日商式コンプレッサー〔医薬用具承認番号(55B)第1270号、以下同じ〕にネプライザ一本体〔医薬用具承認番号(55B)第1329号、以下同じ〕を取り付け流速6 L/minで各試料を80 min 噴霧することによりエアロゾル粒子を発生させ、この発生したエアロゾル粒子を28.3L/minの流速でバキュームポンプで吸引し、多段のステージに粒子を分級した。各ステージにトラップされたエアロゾル粒子をメタノールで洗浄し、回収しその蛍光強度を測定して当該薬物量を算出した。その結果を図1に示す。

図1から明らかなように、対照試料と比較して検体試料は0から2.1 μm に分級された各ステージにおける薬物量が多く、 $p < 0.01$ で有意差が観測された。なかでも、2.1 μm 以下のステージには対照試料はほとんど捕捉されていないのに対して、検体試料は回収された薬物の全量の約70% が存在した。これは、脂肪乳剤の粒子径を小さくすることで気体動力学的粒子径の小さい粒子が作製できる為であると考えられる。一方、2.1 μm 以上9 μm 以下においては双方に $p < 0.05$ で有意な差が認められなかった。また、ステージに回収された薬物の全量は対照試料と比較して検体試料が約3倍多いことも確認された。

気体動力学的粒子径は、薬物が作用部位に到達し沈着するための極めて重要な因子である。ヒトにおいて呼吸器に入る気体動力学的粒子径は、 $1 \sim 10 \mu\text{m}$ と考えられており、その内 $2 \sim 5 \mu\text{m}$ のエアロゾル粒子が気道（気管から終末細気管支）に到達して沈着するのに最適とされ、さらに深部にある肺胞に到達し作用しうる粒子径は $1 \sim 2 \mu\text{m}$ と言われている（JP Forum Vol. 4 No. 1 1995参照）。本試験例1により対照試料と比較して検体試料が $2.1 \mu\text{m}$ 以下のエアロゾル粒子が有意に多いことから判るように、従来の脂肪乳剤に係る吸入剤では得ることが困難であった粒子径 $1 \sim 2 \mu\text{m}$ のエアロゾル粒子を本発明吸入剤では容易に発生させることができる。即ち、従来の脂肪乳剤に係る吸入剤では到達させることが困難であった肺胞までの薬物の到達が本発明では十分に可能であることが示唆された。

試験例2 気体動力学的粒子径（MMAD）及びその分布の測定（その2）

実施例1のCA含有の本発明吸入剤を検体試料とし、気体動力学的粒子径及びその分布をネブライザーの噴霧条件を変えて測定した。噴霧条件はネブライザー本体に付属するゴム栓を閉めた状態（条件-1；実施例1の検体試料と同じ）とゴム栓を開けた状態（条件-2）で行った。条件-1ではより細かなエアロゾル粒子が得られ、条件-2では粗いエアロゾル粒子が得られるとされている。測定は、試験例1と同様にAnderson社のCascade Impactor、日商式コンプレッサー及びネブライザー本体を使用し、コンプレッサーの流速及びバキュームの流速は試験例1と同じ条件で行った。各ステージにト

ラップされたエアロゾル粒子は、メタノールで洗浄し、回収しその蛍光強度を測定し当該薬物量を算出した。その結果を図2に示す。

図2から明らかなように、検体試料は、条件-1では $1.1 \sim 2.1 \mu\text{m}$ に粒子分布のピークを持つ細かなエアロゾル粒子が得られ、条件-2では $2.1 \sim 3.3 \mu\text{m}$ ピークを持つ比較的粗いエアロゾル粒子が得られた。エアロゾル粒子の気体動力学的粒子径は、前記のように薬物が作用部位に到達し沈着するための極めて重要な因子であり、ヒトにおいて $2 \sim 5 \mu\text{m}$ のエアロゾル粒子が気道（気管から終末細気管支）に到達して沈着するのに最適とされ、さらに深部にある肺胞に到達し作用しうる粒子径は $1 \sim 2 \mu\text{m}$ と言われている。一方、薬物には気管支を作用部位とするものや、肺胞から吸収されて全身投与を目的とするものがあるが、薬物の作用機序によってエアロゾル粒子の最適な気体動力学的粒子径が決められる。本試験により、検体試料は条件-1と条件-2の噴霧条件でエアロゾル粒子の粒子径が調節可能であることが判り、気管支に作用する薬物にも、全身投与を目的とする薬物にも応用が可能であることが明かである。

試験例3 ネブライザー噴霧中における噴霧溶液の濃縮化に関する試験

実施例1のCA含有本発明吸入剤を検体試料とし、対照試料-1として試験例1と同様の直径 $0.2 \mu\text{m}$ の脂肪乳剤にCAを含有させたものを用いた。また、対照試料-2として生理食塩水を用いた。

サンプリングは、日商式コンプレッサーにネブライザーボディを取り付け流速 6 L/min で各試料を 80min 噴霧し、ネブライザーボディ内に残存する噴霧溶液について行った。検体試料及び対照試料-1の残存

濃度は C A を蛍光法で定量することで、対照試料 - 2 の残存濃度はナトリウム濃度を電極法で測定することによって求めた。その結果を図 3 に示す。

図 3 から明らかなように、検体試料は、対照試料 - 2 とほぼ同じ濃度上昇を示し、対照試料 - 1 はこれらより有意に高い濃度上昇を示した。なお、全ての試料の濃度が上昇するのは、水の蒸発が影響していると考えられる。一方、対照試料 - 1 の濃度が検体試料や対照試料 - 2 よりも有意に高くなるのは、直径 $0.2 \mu\text{m}$ の脂肪乳剤粒子が含まれない、水だけのエアロゾル粒子が発生し飛散する為であると考えられる。このことは、試験例 1 でも確認されたように、直径 $0.2 \mu\text{m}$ の脂肪乳剤に係る吸入剤では、 $2.1 \mu\text{m}$ 以下のエアロゾル粒子に薬物があまり存在していないことからも理解されうる。即ち、直径 $0.2 \mu\text{m}$ の脂肪乳剤に係る吸入剤をネプライザーを用いて噴霧した場合は、 $2.1 \mu\text{m}$ 以下のエアロゾル粒子は発生するが、直径 $0.2 \mu\text{m}$ の脂肪乳剤粒子はその中にあまり存在しないようである。一方、検体試料は対照試料 - 2 とほぼ同じ濃度上昇を示すことから、水だけのエアロゾル粒子はほとんど生じないと考えられる。

試験例 4 ろ過滅菌性試験

実施例 1 の C A 含有本発明吸入剤を検体試料とし、対照試料として試験例 1 と同様の直径 $0.2 \mu\text{m}$ の脂肪乳剤に C A を含有させたものを用いた。

本試験は、加圧ろ過装置と孔径 $0.22 \mu\text{m}$ のメンブレンフィルター（セルロースアセテート + ニトロセルロース； Millipore 社製、MF ミリポア）を用い両試料 10mL をろ過し、ろ過後の液量と薬物の回

収率を求める方法で行った。その結果を表1に示す。

表1

	フィルター通過ろ液 (mL)	薬物の回収率 (%)
検体試料	9.9 ± 0.2	100 ± 1.3
対照試料	1.3 ± 0.1	12 ± 2.3

表1から明らかなように、対照試料はフィルターろ過による滅菌が困難であるのに対して、検体試料はフィルターろ過が十分に可能であることが判明した。

試験例5 ウサギを用いた経肺投与実験（その1）

雄性9週齢のウサギ (Kbs: JW) 6匹を麻酔下で気管を露出させ、Y字カニューレを接続し、レスピレーターを用いて人工呼吸させた。人工呼吸下で、実施例5の本発明吸入剤を検体試料とし、試験例1と同様の直径0.2 μmの脂肪乳剤にシクロスボリンAを含有させた吸入剤を対照試料として、投与量が5mg/kgとなるように日商式コンプレッサー及びネブライザー本体を用いて各試料を約30分間噴霧した。吸入終了後カニューレをはずし挿入口を縫合糸で閉じ、経時的に耳静脈より採血しシクロスボリンAの血漿中濃度を蛍光偏光免疫測定法 (FPIA) より測定した。その結果を図4に示す。

図4から明らかなように、検体試料を投与した群の血漿中シクロスボリン濃度が対照試料よりも高く推移し、血漿中濃度 - 時間曲線下面積 (AUC) の差が約3倍であることが確認された。これは、薬物が吸入投与により全身の血流に移行するには肺胞に薬物が到達することが条件であるが、対照試料である直径0.2 μmの脂肪乳剤に係る吸入剤では肺胞までに薬物を到達させることが困難であるのに対して、検体試料である本発明吸入剤では、試験例1からも明ら

かなように、肺胞まで到達できるエアロゾル粒子に薬物が含有されているためと考えられる。ウサギを用いた本経肺投与実験によって、検体試料である本発明吸剤は肺胞到達性に優れていることが明かである。

試験例 6 ウサギを用いた経肺投与実験（その 2）

雄性 9 週齢のウサギ (Kbs: JW) 6 匹を麻酔下で気管を露出させ、Y 字カニューレを接続しレスピレーターを用いて人工呼吸させた。

人工呼吸下で、実施例 5 の本発明吸入剤を検体試料とし、Tween-80 でシクロスボリン A を可溶化させた吸入剤を対照試料として、投与量が 1 mg / kg となるように日商式コンプレッサー及びネブライザー本体を用いて各試料を約 30min 間噴霧した。吸入終了後カニューレをはずし挿入口を縫合糸で閉じ、経時的に耳静脈より採血しシクロスボリン A の血漿中濃度を蛍光偏光免疫測定法 (FPIA) より測定した。その結果を図 5 に示す。

図 5 から明らかなように、検体試料を投与した群と対照試料を投与した群とは、AUC について $p < 0.05$ で有意差無しであることが確認された。両者とも 2 時間までの血漿中濃度推移は、ほぼ同じであったが、3 時間後から検体試料群は対照試料群と比較して緩やかに減少した。これから検体試料である本発明吸入剤は、界面活性剤で可溶化させた吸入剤よりも徐放性を示しており、また血漿中濃度を高く保つことが判明した。

試験例 7 可溶化に必要な界面活性剤濃度の噴霧への影響

CA、グアイアズレン、及びデキサメタゾンバルミテートを HCO-60 、プロピレングリコール、ラウリル硫酸ナトリウム、Tween-

80、及びTriton X100 で可溶化したものと、実施例1、3、及び6 の本発明吸入剤との噴霧の可能性についてネプライザーを用いて比較した。その結果を表2に示す。

表2

	CA	グアイアズレン	デキサメタゾン バルミテート
HCO-60	不可	不可	不可
プロピレングリコール	不可	不可	不可
ラウリル硫酸ナトリウム	不可	不可	不可
Tween-80	不可	不可	不可
Triton X100	不可	不可	不可
本発明吸入剤	実施例1 可	実施例3 可	実施例6 可

表2から明らかなように、界面活性剤又は可溶化剤を用いて可溶化した全ての溶液は、ネプライザー本体に生じる泡のために噴霧が困難であった。

試験例8 動粘度の測定

実施例1のCA含有本発明吸入剤を検体試料とし、対照試料として試験例1と同様の直径0.2 μm の脂肪乳剤にCAを含有させたものを用いた。

検体試料及び対照試料の動粘度は、毛細管粘度計法を用いて測定した ($n=10$)。水と比較的近い粘度を測定するため、標準液として水を使用した。水の動粘度は20°Cで $1.0038\text{mm}^2/\text{s}$ である。その結果を表3に示す。

表 3

	動粘度 (mm ² /s)
検体試料	1.0323±0.0021
対照試料	1.4985±0.0038

表 3 から明らかなように、検体試料は対照試料と比較して動粘度が低いことが判る。従って、本発明吸入剤は、ネブライザー等により容易に小さいエアロゾル粒子を発生させることができる。

発明の効果

本発明の効果としては、例えば、以下を挙げることができる。

- ①本発明吸入剤は低粘度であり、ネブライザーにかけても実質的に泡立たないから、ネブライザー等の適当な吸入器具によりエアロゾル粒子を容易に発生させることができる。
- ②適当な吸入器具を用いれば、本発明吸入剤から、肺胞まで到達しうる大きさのエアロゾル粒子を容易に発生させることができ、かつエアロゾル粒子の粒径コントロールも容易である。
- ③本発明吸入剤は、肺を経由した全身作用を目的とすることも可能である。従って、気道、気管支、肺胞等の局所適用のみに限られない。また薬物の作用持続性やバイオアベイラビリティーの改善も図ることができる。
- ④0.22μm のメンブレンフィルターによるろ過滅菌が可能である。従って、特に熱に不安定でオートクレーブ滅菌できない薬物に対しても有用である。

図面の簡単な説明

図 1 は、エアロゾル粒子の各粒径幅における薬物量を表す。横軸

は気体動力学的粒子径 (μm)を、縦軸は蛍光強度を、それぞれ示す。黒塗り棒グラフは、本発明吸入剤の結果を、白抜き棒グラフは、対照試料の結果を、それぞれ表す。

図 2 は、エアロゾル粒子の各粒径幅における薬物量を表す。横軸は気体動力学的粒子径 (μm)を、縦軸は蛍光強度を、それぞれ示す。黒塗り棒グラフは、条件 - 1 の結果を、白抜き棒グラフは、条件 - 2 の結果を、それぞれ表す。

図 3 は、噴霧溶液の濃縮度推移を表す。横軸は時間 (分)、縦軸は蛍光強度を、それぞれ示す。-●-は、検体試料 (本発明吸入剤) の結果を、-○-は、対照試料 - 1 の結果を、-△-は、対照試料 - 2 (生理食塩水) の結果を、それぞれ表す。

図 4 は、ウサギを用いた経肺投与実験の結果を表す。横軸は時間 (時間) を、縦軸は血漿中のシクロスボリン A の濃度 (ng/ml)を、それぞれ示す。-●-は、本発明吸入剤の結果を、-○-は、対照試料の結果を、それぞれ表す。

図 5 は、ウサギを用いた経肺投与実験の結果を表す。横軸は時間 (時間) を、縦軸は血漿中のシクロスボリン A の濃度 (ng/ml)を、それぞれ示す。-●-は、本発明吸入剤の結果を、-○-は、対照試料の結果を、それぞれ表す。

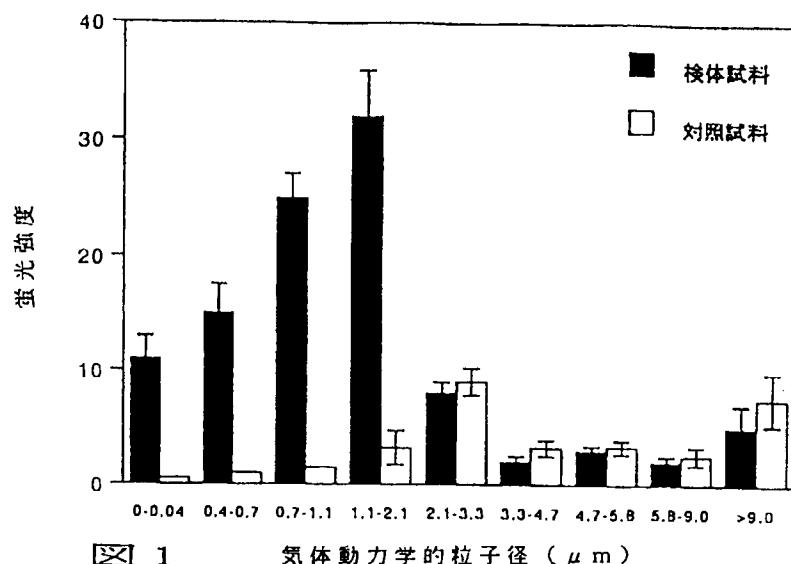
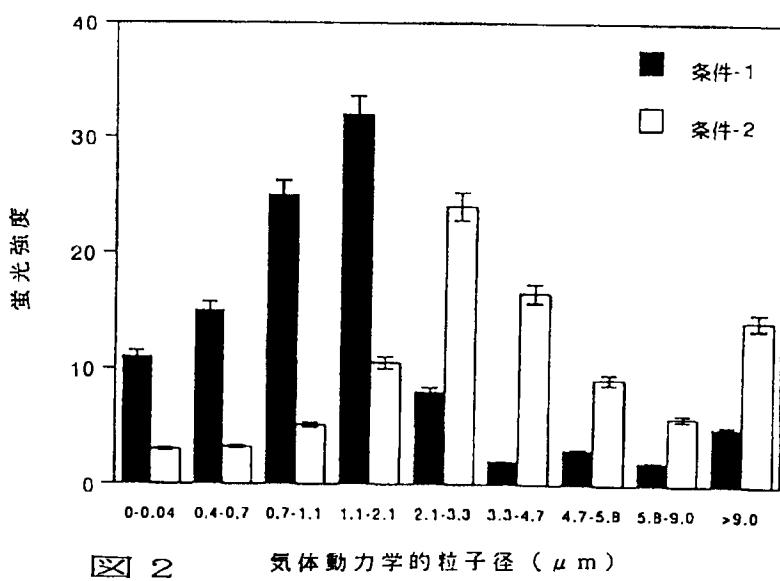
請求の範囲

1. 油成分、乳化剤、及び薬物を必須構成成分とする脂肪乳剤粒子が水中に分散しているo/w型脂肪乳剤であって、かかる脂肪乳剤粒子の平均粒子径が5～100nmの範囲内であることを特徴とする吸入投与用脂肪乳剤又はその凍結乾燥製剤。
2. 脂肪乳剤中、油成分の含有量が0.1～30w/v%の範囲内であり、乳化剤の含有量が0.05～40w/v%の範囲内である請求項1記載の吸入投与用脂肪乳剤又はその凍結乾燥製剤。
3. 油成分と乳化剤との重量比（油成分／乳化剤）が0.1～2.0の範囲内である請求項1又は2記載の吸入投与用脂肪乳剤又はその凍結乾燥製剤。
4. 油成分が植物油又はグリセライドであり、乳化剤がリン脂質又は非イオン性界面活性剤である請求項1～3のいずれかに記載の吸入投与用脂肪乳剤又はその凍結乾燥製剤。
5. 植物油が大豆油であり、リン脂質が卵黄レシチンである請求項4記載の吸入投与用脂肪乳剤又はその凍結乾燥製剤。
6. さらに糖類を含有する請求項1～5のいずれかに記載の吸入投与用脂肪乳剤の凍結乾燥製剤。
7. 脂肪乳剤中、糖類の含有量が1～30w/v%である請求項6記載の吸入投与用脂肪乳剤を凍結乾燥して得られる凍結乾燥製剤。
8. 糖類が二糖類である請求項6又は7記載の吸入投与用脂肪乳剤の凍結乾燥製剤。
9. さらに脂肪酸及び／又はコレステロールを含有する請求項1～8のいずれかに記載の吸入投与用脂肪乳剤又はその凍結乾燥製剤。

10. 請求項1～9のいずれかに記載の吸入投与用脂肪乳剤又はその凍結乾燥製剤を含有するネブライザー剤。

11. 請求項1～9のいずれかに記載の吸入投与用脂肪乳剤の凍結乾燥製剤を含有する粉末吸入剤。

12. 油成分、乳化剤、及び薬物を必須構成成分とする脂肪乳剤粒子が水中に分散しているO/W型脂肪乳剤であって、かかる脂肪乳剤粒子の平均粒子径が5～100nmの範囲内であることを特徴とする脂肪乳剤又はその凍結乾燥製剤を吸入投与する方法。

図 1 気体動力学的粒子径 (μm)図 2 気体動力学的粒子径 (μm)

2 / 3

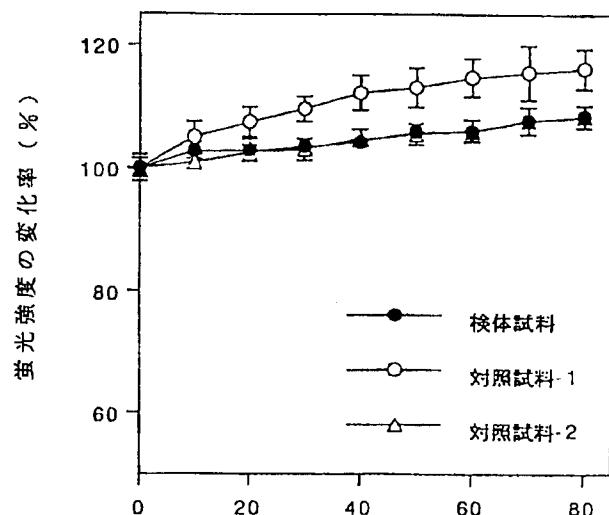


図 3 時間 (分)

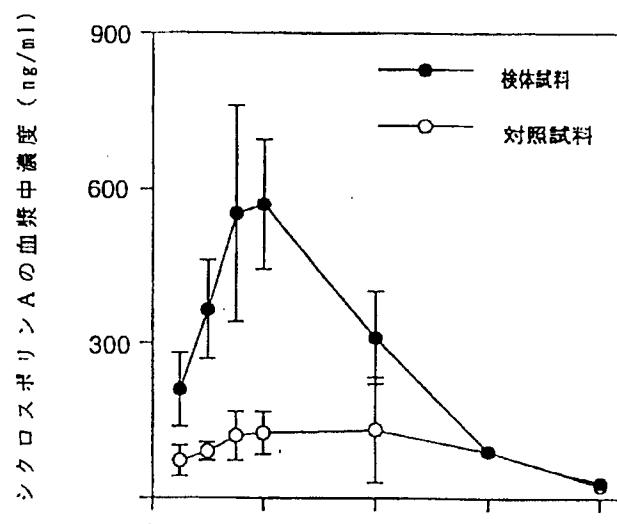
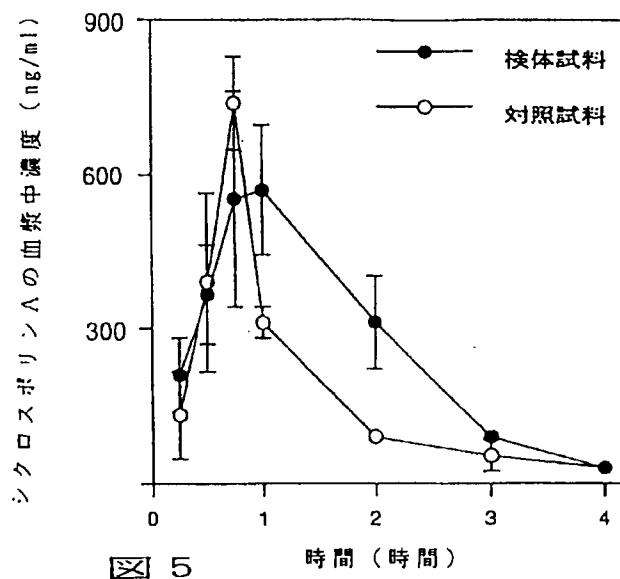


図 4 時間 (時間)

3 / 3



差替え用紙（規則26）

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP99/01004

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER
Int.Cl⁶ A61K9/72, A61K9/107, A61K47/24, A61K47/26, A61K47/14, A61K47/12

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

Int.Cl⁶ A61K9/72, A61K9/107, A61K47/24, A61K47/26, A61K47/14, A61K47/12

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	JP, 63-211223, A (Clayton Foundation for Research), 2 September, 1988 (02. 09. 88) & EP, 267050, A1 & CA, 1263310, A	1-11
A	JP, 5-70346, A (LTT Institute Co., Ltd.), 23 March, 1993 (23. 03. 93) (Family: none)	1-11
A	JP, 5-124965, A (LTT Institute Co., Ltd.), 21 May, 1993 (21. 05. 93) (Family: none)	1-11

Further documents are listed in the continuation of Box C. See patent family annex.

* Special categories of cited documents:	"T"	later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention
"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance	"X"	document of particular relevance: the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone
"E" earlier document but published on or after the international filing date	"Y"	document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art
"L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)	"&"	document member of the same patent family
"O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means		
"P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed		

Date of the actual completion of the international search 26 May, 1999 (26. 05. 99)	Date of mailing of the international search report 8 June, 1999 (08. 06. 99)
--	---

Name and mailing address of the ISA/ Japanese Patent Office	Authorized officer
--	--------------------

Facsimile No.	Telephone No.
---------------	---------------

INTERNATIONAL SEARCH REPORTInternational application No.
PCT/JP99/01004**Box I Observations where certain claims were found unsearchable (Continuation of item 1 of first sheet)**

This international search report has not been established in respect of certain claims under Article 17(2)(a) for the following reasons:

1. Claims Nos.: 12
because they relate to subject matter not required to be searched by this Authority, namely:
Claim 12 involves methods for treatment of the human body by therapy and thus relates to a subject matter which this International Searching Authority is not required, under the provisions of Article 17(2) (a) (i) of the PCT and Rule 39.1(iv) of the Regulations under the PCT, to search.
2. Claims Nos.:
because they relate to parts of the international application that do not comply with the prescribed requirements to such an extent that no meaningful International search can be carried out, specifically:
3. Claims Nos.:
because they are dependent claims and are not drafted in accordance with the second and third sentences of Rule 6.4(a).

Box II Observations where unity of invention is lacking (Continuation of item 2 of first sheet)

This International Searching Authority found multiple inventions in this international application, as follows:

1. As all required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers all searchable claims.
2. As all searchable claims could be searched without effort justifying an additional fee, this Authority did not invite payment of any additional fee.
3. As only some of the required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers only those claims for which fees were paid, specifically claims Nos.:
4. No required additional search fees were timely paid by the applicant. Consequently, this international search report is restricted to the invention first mentioned in the claims; it is covered by claims Nos.:

Remark on Protest The additional search fees were accompanied by the applicant's protest.
 No protest accompanied the payment of additional search fees.

国際調査報告

国際出願番号 PCT/JP99/01004

A. 発明の属する分野の分類（国際特許分類（IPC））
Int.Cl° A61K9/72, A61K9/107, A61K47/24, A61K47/26, A61K47/14, A61K47/12

B. 調査を行った分野

調査を行った最小限資料（国際特許分類（IPC））
Int.Cl° A61K9/72, A61K9/107, A61K47/24, A61K47/26, A61K47/14, A61K47/12

最小限資料以外の資料で調査を行った分野に含まれるもの

国際調査で使用した電子データベース（データベースの名称、調査に使用した用語）

C. 関連すると認められる文献

引用文献の カテゴリー*	引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示	関連する 請求の範囲の番号
A	J P, 63-211223, A(クレイン ファウンデイション フォーリサーチ), 2.9月.1988(02.09.88) & E P, 26705 0, A 1 & CA, 1263310, A	1-11
A	J P, 5-70346, A(株式会社エルティーティー研究所), 23. 3月.1993(23.03.93)(ファミリーなし)	1-11
A	J P, 5-124965, A(株式会社エルティーティー研究所), 21.5月.1993(21.05.93)(ファミリーなし)	1-11

 C欄の続きにも文献が列挙されている。 パテントファミリーに関する別紙を参照。

* 引用文献のカテゴリー

「A」特に関連のある文献ではなく、一般的技術水準を示すもの

「E」国際出願日前の出願または特許であるが、国際出願日以後に公表されたもの

「L」優先権主張に疑義を提起する文献又は他の文献の発行日若しくは他の特別な理由を確立するために引用する文献（理由を付す）

「O」口頭による開示、使用、展示等に言及する文献

「P」国際出願日前で、かつ優先権の主張の基礎となる出願

の日の後に公表された文献

「T」国際出願日又は優先日後に公表された文献であって出願と矛盾するものではなく、発明の原理又は理論の理解のために引用するもの

「X」特に関連のある文献であって、当該文献のみで発明の新規性又は進歩性がないと考えられるもの

「Y」特に関連のある文献であって、当該文献と他の1以上の文献との、当業者にとって自明である組合せによって進歩性がないと考えられるもの

「&」同一パテントファミリー文献

国際調査を完了した日

26.05.99

国際調査報告の発送日

08.06.99

国際調査機関の名称及びあて先

日本国特許庁 (ISA/JP)

郵便番号 100-8915

東京都千代田区霞が関三丁目4番3号

特許庁審査官（権限のある職員）

福井 悟

4C 9160

電話番号 03-3581-1101 内線 6613

国際調査報告

国際出願番号 PCT/JP99/01004

第I欄 請求の範囲の一部の調査ができないときの意見（第1ページの2の続き）

法第8条第3項（PCT17条(2)(a)）の規定により、この国際調査報告は次の理由により請求の範囲の一部について作成しなかった。

1. 請求の範囲 1 2 は、この国際調査機関が調査をすることを要しない対象に係るものである。
つまり、
 請求の範囲 1 2 は治療による人体の処置方法を包含するものであるので、PCT17条(2)(a)(i)及びPCT規則39、1(iv)の規定により、この国際調査機関が調査することを要しない対象に係るものである。
2. 請求の範囲 _____ は、有意義な国際調査をすることができる程度まで所定の要件を満たしていない国際出願の部分に係るものである。つまり、
3. 請求の範囲 _____ は、従属請求の範囲であってPCT規則6.4(a)の第2文及び第3文の規定に従って記載されていない。

第II欄 発明の単一性が欠如しているときの意見（第1ページの3の続き）

次に述べるようにこの国際出願に二以上の発明があるとこの国際調査機関は認めた。

1. 出願人が必要な追加調査手数料をすべて期間内に納付したので、この国際調査報告は、すべての調査可能な請求の範囲について作成した。
2. 追加調査手数料を要求するまでもなく、すべての調査可能な請求の範囲について調査することができたので、追加調査手数料の納付を求めなかつた。
3. 出願人が必要な追加調査手数料を一部のみしか期間内に納付しなかつたので、この国際調査報告は、手数料の納付のあった次の請求の範囲のみについて作成した。
4. 出願人が必要な追加調査手数料を期間内に納付しなかつたので、この国際調査報告は、請求の範囲の最初に記載されている発明に係る次の請求の範囲について作成した。

追加調査手数料の異議の申立てに関する注意

- 追加調査手数料の納付と共に出願人から異議申立てがあつた。
- 追加調査手数料の納付と共に出願人から異議申立てがなかつた。